

氏 名	平井 政彦
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第3908号
学位授与の日付	平成21年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 機能分子化学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	腫瘍ターゲティング能を有するシスプラチン内包リポソームの創製と 治療に関する研究
論文審査委員	教授 妹尾 昌治      教授 尾坂 明義      准教授 村上 宏

### 学位論文内容の要旨

シスプラチン (CDDP) は臨床で最も汎用されている制癌剤の一つであり、肺癌、卵巣癌、胃癌をはじめとする様々な癌の治療に用いられている。しかし、腎毒性、血液障害、難聴をはじめとする副作用が問題となり投与量も制限されている。CDDPの抗腫瘍効果を維持したまま副作用を軽減させるために、様々なCDDP誘導体のスクリーニングや剤型または投与方法の開発が試みられている。リポソームはCDDPを腫瘍部位に効率よく送達するキャリアーとして、これまで多くの研究がなされているが、腫瘍部位を特異的に認識し薬物を効率的に送達するリポソームは未だ実用化に至っていない。

本研究では、CDDPを内包した直径約100nmのリポソームの表面にシアリルルイスX(SLX)および抗E-セレクトインモノクローナル抗体( $\alpha$ -E.sel)を結合させ、腫瘍組織近傍の新生血管や血管内皮細胞上に特異的に発現するE-セレクトインを標的分子とし、リポソームに内包したCDDPを腫瘍組織へ効率的かつ特異的に送達することを試みた。また、低分子の親水性物質でリポソーム表面をコーティングしてステルス性を持たせ、また、リポソーム表面を負に帯電させて血中滞留性を増加させた。実際に、*in vivo*蛍光イメージングにより蛍光物質Cy5.5を内包したSLXおよび $\alpha$ -E.selのいずれのリポソームも非修飾リポソームよりも顕著に癌部位に集積することがわかった。

CDDPは水溶性が低くリポソームへの封入は困難であることから、CDDPをリポソームに高濃度封入する検討を行った。まず、CDDP誘導体の中で水溶性の高いCDDP硝酸体に着目し、CDDP硝酸体を塩化物イオン非存在下でリポソームに封入した。次に塩化物イオン添加によりリポソーム内で硝酸体をCDDPに変換した。この方法により、リポソームへのCDDP封入量は著しく増加した。

CDDPをリポソームに封入して投与することによるCDDPの毒性軽減について検討した。体重減少、生存率および病理学的組織観察を行った結果、明らかな毒性軽減効果を示すことが判った。

CDDPの腫瘍部位への送達を担癌マウスを用いて検討した結果、CDDP封入SLX結合リポソームは、CDDP封入SLX非結合リポソームに比べ、5.7倍量のCDDPを腫瘍部位へ送達できることが判明した。CDDP封入SLX結合リポソームの細胞増殖抑制効果を5種の腫瘍細胞を用いて調べた結果、細胞間で感受性の差が認められたが、いずれの細胞もCDDP内包SLX結合リポソーム添加によるCDDP感受性を示した。

抗腫瘍効果をCDDP感受性の低いA549細胞を用いて、腫瘍体積(mm<sup>3</sup>)を算出することにより検討をした。その結果、CDDP内包SLX結合リポソームとはCDDP内包糖鎖非結合リポソームに比べ、高い抗腫瘍活性を示し、SLXの有効性が認められた。

以上のことから、CDDP内包SLX結合リポソームはCDDPの副作用を軽減し、高い抗腫瘍活性を有する抗癌剤になりうると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

シスプラチン（CDDP）は臨床で最も汎用されている制癌剤の一つであり、肺癌、卵巣癌、胃癌をはじめとする様々な癌の治療に用いられている。しかし、腎毒性、血液障害、難聴をはじめとする副作用が問題となり投与量も制限されている。CDDPの抗腫瘍効果を維持したまま副作用を軽減させるために、様々なCDDP誘導体のスクリーニングや剤型または投与方法の開発が試みられている。リポソームはCDDPを腫瘍部位に効率よく送達するキャリアーとして、これまで多くの研究がなされているが、腫瘍部位を特異的に認識し薬物を効率的に送達するリポソームは未だ実用化に至っていない。そこで、本論文では、CDDPを内包したリポソームの表面にシアリルルイスX(SLX)および抗E-セレクトインモノクローナル抗体(□-E.sel)を結合させ、腫瘍組織近傍の新生血管や血管内皮細胞上に特異的に発現するE-セレクトインを標的分子とし、リポソームに内包したCDDPを腫瘍組織へ効率的かつ特異的に送達することを試みた。また、低分子の親水性物質でリポソーム表面をコーティングしてステルス性を持たせ、また、リポソーム表面を負に帯電させて血中滞留性を増加させた。実際に、*in vivo*蛍光イメージングにより蛍光物質Cy5.5を内包したSLX結合リポソームおよび□-E.sel結合リポソームの癌部位への集積性を検討したところ、SLXおよび□-E.selのいずれのリポソームも非修飾リポソームよりも顕著に癌部位に集積した。一方、CDDPは水溶性が低くリポソームへの封入は困難であることから、CDDPをリポソームに高濃度に封入する検討を行った。まず、CDDP誘導体の中で水溶性の高いCDDP硝酸体に着目し、CDDP硝酸体を塩化物イオン非存在下でリポソームに封入した。次に塩化物イオン添加によりリポソーム内で硝酸体をCDDPに変換した。この方法により、リポソームへのCDDP封入量は著しく増加した。CDDPをリポソームに封入して投与することによるCDDPの毒性軽減について検討した。体重減少、生存率および病理学的組織観察を行った結果、明らかな毒性軽減効果を示すことが判った。CDDPの腫瘍部位への送達を担癌マウスを用いて検討した結果、CDDP封入SLX結合リポソームは腫瘍部位へ送達され著効を示した。以上のことから、CDDP内包SLX結合リポソームはCDDPの副作用を軽減し、高い抗腫瘍活性を有する抗癌剤として有望であると認め、審査委員の全員が本論文を学位にふさわしい論文であると評価した。